

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KECAMBAH
KACANG HIJAU (*Phaseolus Radiatus*) TERHADAP
BERAT UTERUS DAN KETEBALAN DINDING
UTERUS PADA KELINCI NEW ZEALAND
WHITE (*Oryctolagus Cuniculus*) PASCA
INDUKSI HORMON PROGESTERON**

SKRIPSI

Oleh:

LOLA RIZQI ASDITHA

115130107111002



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KECAMBAH
KACANG HIJAU (*Phaseolus Radiatus*) TERHADAP
BERAT UTERUS DAN KETEBALAN DINDING
UTERUS PADA KELINCI NEW ZEALAND
WHITE (*Oryctolagus Cuniculus*) PASCA
INDUKSI HORMON PROGESTERON**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

**LOLA RIZQI ASDITHA
115130107111002**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KECAMBAH KACANG HIJAU
(*Phaseolus radiatus*) TERHADAP BERAT UTERUS DAN KETEBALAN
DINDING UTERUS PADA KELINCI NEWZEALAND WHITE
(*Oryctolagus cuniculus*) PASCA INDUKSI HORMON
PROGESTERON**

Oleh :

LOLA RIZQI ASDITHA
115130107111002

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji

Pada tanggal 9 Agustus 2018

Dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Dosen Pembimbing 1



Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

Dosen Pembimbing 2



drh. Dyah Ayu Oktaviane A.P., M. Biotech
NIP. 19841026 200812 2 004

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya



Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Lola Rizqi Asditha
 NIM : 115130107111002
 Program Studi : Kedokteran Hewan
 Penulis Skripsi berjudul :

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KECAMBAH KACANG HIJAU (Phaseolus radiatus) TERHADAP BERAT UTERUS DAN KETEBALAN DINDING UTERUS PADA KELINCI NEWZEALAND WHITE (Orictologus cuniculus) PASCA INDUKSI HORMON PROGESTERON

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang tercantum di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang 9 Agustus 2018
 Yang menyatakan,



Lola Rizqi Asditha
 NIM. 115130107111002

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KECAMBAH KACANG HIJAU
(*Phaseolus radiatus*) TERHADAP BERAT UTERUS DAN KETEBALAN
DINDING UTERUS PADA KELINCI NEW ZEALAND WHITE
(*Oryctolagus cuniculus*) PASCA INDUKSI
HORMON PROGESTERON**

ABSTRAK

Estrogen adalah sekelompok senyawa steroid yang berfungsi pada reproduksi betina. Dalam reproduksi diperlukan adanya hormone estrogen, yang dapat digantikan oleh fitoestrogen yang merupakan suatu substrat dari tumbuhan yang memiliki aktivitas mirip estrogen. Salah satu tumbuhan yang memiliki kandungan senyawa fitoestrogen adalah kecambah Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus*). Tujuan dari penelitian ini mengetahui pengaruh ekstrak kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap berat uterus dan ketebalan dinding uterus kelinci *New Zealand White* pasca induksi progesteron. Penelitian ini menggunakan 20 ekor kelinci betina *New Zealand White* (*Oryctolagus cuniculus*) dengan rata-rata memiliki berat badan 2 kg . Pemberian perlakuan induksi progesteron di berikan dosis sebesar 2,3 mg/kg BB diberikan melalui Intramuskular selama 7 hari, sedangkan pemberian terapi ekstrak kecambah kacang hijau diberikan dengan dosis 0,92 g/kg BB dan 1,84 g/kg BB diberikan secara per oral dengan disonde melalui sonde modifikasi langsung ke lambung selama 14 hari. Pengukuran berat uterus menggunakan timbangan analitik dan pembuatan preparat histopatologi endometrium menggunakan metode pewarnaan *Hematoksin-Eosin* (HE), kemudian dianalisis secara kuantitatif menggunakan One Way Analysis of Variance (ANOVA) dengan uji lanjutan Tukey ($\alpha=5\%$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kecambah kacang hijau mampu meningkatkan berat uterus kelinci dan menambah ketebalan endometrium secara signifikan ($p < 0,05$). Kelompok dengan dosis 1,84 g/kg BB merupakan dosis terbaik dalam meningkatkan berat uterus hingga 140,54% serta meningkatkan ketebalan dinding endometrium sebesar 177,05%. Disimpulkan bahwa ekstrak kecambah kacang hijau dapat meningkatkan berat uterus dan menambah ketebalan dinding endometrium pada hewan model kelinci pasca induksi hormon progesteron.

Kata kunci :Endometrium , Hormon Progesteron, Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus*), Kelinci New Zealand White , Uterus

**THE MUNG BEAN (*Phaseolus radiatus*) SPROUT EXTRACT TOWARD
UTERUS WEIGHT AND UTERUS WALL THICKNESS ON NEW
ZEALAND WHITE RABBIT (*Oryctolagus cuniculus*) POST
PROGESTERON HORMONE INDUCTION**

ABSTRACT

Estrogen is a group of steroid compounds that function in female reproduction. In reproduction, estrogen hormone are needed, which can be replaced by phytoestrogens which are a substrate of plants that have estrogen-like activity. One of the plants that contains phytoestrogen compounds is Green Bean sprouts (*Phaseolus radiatus*). The purpose of the research was to study the effect of mung beans sprouts (*Phaseolus radiatus*) extract based on the increasing weight of uterine and thickness of endometrium wall. This research used 20 rabbits New Zealand White breed aged of 10 months and had average of 2 kg of body weight. Hypoestrogen animal model was done by giving induction of progesterone hormone dose 2,3 mg/kg BW administered by Intramuscular for 7 day, while the extract of mung bean sprout dose 0,92 g/kg BW and 1,84 g/kg BW given orally for 14 days. Measurement of weight of uterine and was calculated by analytic digital scale and endometrium histopathology were stained using Hematoxylin-Eosin (HE) methods. Data were analyzed with ANOVA followed by Tukey test ($\alpha=5\%$). The result showed that extract of mung bean sprout could increase weight of uterine and thickness of endometrium wall significantly ($p < 0.05$). Dose of 1,84 g/kg BW is the best dose to increase weight of uterine up to 140,54% and increase the thickness of endometrium wall up to 177.05%. The conclusion was extract of Mung Bean sprout could increase weight of uterine and thickness of endometrium wall.

Keywords : Endometrium histopathology , New Zealand White , Mung Bean Sprout , Progesterone Hormone .

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang mengatur segala urusan manusia dan atas segala limpahan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kecambah Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus*) Terhadap Berat Uterus Dan Ketebalan Dinding Uterus Pada Kelinci New Zealand White (*Oryctolagus cuniculus*) Pasca Induksi Hormon Progesteron “. Sholawat dan salam semoga tetap tercurah kepada Nabi Agung Muhammad SAW.

Selama penelitian dan penyusunan skripsi ini, halangan dan rintangan terus menerus terjadi pada diri penulis, sehingga dalam penulisannya melibatkan banyak pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terimakasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada :

1. Dr. Aulanni'am, drh., DES. selaku pembimbing I dan Drh. Dyah Ayu Oktavianie A.P., M.Biotech selaku pembimbing II yang telah banyak memberikan bimbingan, nasehat, semangat, motivasi dan arahan kepada penulis agar penulisan tugas akhir ini menjadi lebih baik.
2. drh. M.Arfa Lesmana, M.Sc dan drh. Desi Wulansari, M.Vet selaku Dosen Penguji I dan II yang telah memberikan segala ilmu, dukungan serta saran dan masukan dalam penyempurnaan penulisan tugas akhir ini.
3. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya yang selalu memberikan dukungan tiada henti demi kemajuan FKH UB tercinta.

4. Papa Ir.H.Asmuni M, Mama Hj. Rosita B, S.Pt , MS., dan Errir orges murliap. S.Kg , serta seluruh keluarga besar yang telah memberikan do'a, kasih sayang dan dukungan yang tak terhingga kepada penulis.
5. Secara khusus penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada sahabat penulis drh. Darmawan Dwi P, Firdaus K S.KH, Buyung Yahya S.KH, Tyar Jatu Almira S.KH, Hafiz Maulana A S.KH, Septian Vidya S.KH ,Navy Linggar S.KH dan semua teman teman kolega FKH yang penulis sayangi dan kasihi, penulis ucapkan terimakasih sebanyak banyaknya atas motivasi, belajar bersama tentang makna kehidupan, dan khususnya dalam semangat berjuang bersama di kota perantauan.
6. Sahabat dalam penelitian Ochima Walichi P S.KH dan Dhoni Satria M S.KH, teman seperjuangan melaksanakan penelitian, yang tidak henti-hentinya memberikan support dan motivasi untuk penulis.

Akhirnya hanya kepada Allah SWT kita kembalikan semua urusan dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya bagi penulis dan para pembaca pada umumnya, semoga Allah SWT meridhoi dan dicatat sebagai ibadah disisi-Nya, Amin.

Malang,9 Agustus 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan	5
1.5 Manfaat	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kelinci New Zealand White	7
2.2 Sistem Reproduksi Kelinci Betina	9
2.3 Uterus	9
2.4 Hormon – Hormon reproduksi	11
2.4.1 Hormon Progesteron	11
2.4.2 Hormon Estrogen	12
2.5 Fase Luteal	14
2.6 Kecambah / Kecambah Kacang Hijau (<i>Phaseolus Radiatus</i>)	15
2.7 Fitoestrogen	20
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konseptual	22
3.2 Hipotesis Penelitian	25
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	26
4.2 Alat dan Bahan Penelitian	26
4.2.1 Alat Penelitian	26
4.2.2 Bahan Penelitian	26
4.3 Prosedur Kerja	26
4.3.1 Rancangan Penelitian	26
4.3.2 Variabel Penelitian	28
4.3.3 Persiapan Hewan Coba	28
4.3.4 Pembuatan Ekstrak Kecambah Kacang Hijau	28
4.3.5 Metode Perlakuan	28
4.3.6 Pembedahan Hewan Coba	29
4.3.7 Pembuatan Preparat Histologi Uterus	29
4.3.8 Teknik Pengamatan	30
4.3.9 Analisa Data	30

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
5.1 Pengaruh Pemberian Fitoestrogen Kecambah Kacang Hijau Terhadap Berat Uterus Kelinci.....	32
5.2 Pengaruh Pemberian Fitoestrogen Kecambah Kacang Hijau Terhadap Ketebalan Endometrium Uterus Kelinci.....	34
BAB VI PENUTUP.....	39
6.1 Kesimpulan.....	39
6.2 Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA.....	40
LAMPIRAN.....	44



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Kelinci New Zealand White.....	8
2.2 Histologi Uterus pada Pewarnaan HE.....	9
2.3 Perkecambahan Kacang Hijau.....	15
3.1 Kerangka Konseptual.....	22
5.1 Gambar makroskopis uterus kelinci Kerangka... ..	34
5.2 Hasil pengukuran ketebalan endometrium kelinci secara mikroskopis.	22



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Kandungan Gizi Kacang Hijau dan Kecambah per 100 gram	
Berat Kering.....	17
4.1 Rancangan Kelompok Perlakuan	27
5.1 Berat Uterus Kelinci.....	32
5.2 Hasil pengukuran ketebalan endometrium terhadap kelompok perlakuan	
.....	36



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Diagram Alir Penelitian.....	45
2. Cara Perhitungan Dosis Progesteron.....	46
3. Pembuatan Ekstrak Kecambah Kacang Hijau.....	47
4. Perhitungan Dosis Ekstrak Kecambah Kacang Hijau dan Tabel Dosis Ekstrak Kecambah Kacang Hijau.....	48
5. Pembuatan Preparat Histopatologi Uterus.....	50
6. Laik Etik Penelitian.....	51
7. Analisa Statistik One Way Anova Berat Uterus	52
8. Analisa Statistik One Way Anova Ketebalan Endometrium....	54



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

Simbol/singkatan	Keterangan
%	Persen
BB	Berat Badan
cm	centi meter
ER	<i>Estrogen Reseptor</i>
FSH	<i>Folicle Stimulating Hormon</i>
g	gram
GnRH	<i>Gonadtropin Releasing Hormon</i>
HE	Hematoxilin Eosin
KN	Kontrol Negatif
Kg	Kilogram
L	Liter
LH	Luteinizing Hormon
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
mg	Miligram
mL	mili Liter
NaCl	Natrium Klorida
P1	Perlakuan 1
P2	Perlakuan 2
PGF2 α	Prostaglandin
PGE2	Prostaglandin E2
SPSS	<i>Statistical Package For The Social Sciences</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Reproduksi merupakan proses yang kompleks, karena untuk terjadinya reproduksi yang normal memerlukan peranan banyak faktor, baik dari dalam maupun dari luar tubuh. Hormon-hormon yang mempengaruhi siklus reproduksi yaitu GnRH, FSH (*Follicle Stimulating Hormone*), LH (*Luteinizing Hormone*), estrogen, dan progesterone. Salah satu kondisi abnormalitas yang disebabkan dari hormon reproduksi yaitu hypo estrogen yaitu keadaan rendahnya kadar serum estrogen dengan standart normalnya adalah 30-40 pg/mL, kondisi ini merupakan ciri khas kondisi dari wanita pascamenopause (Blaje, 2014). Menurut Heffner (2005) tidak munculnya salah satu atau lebih faktor dapat menyebabkan hambatan proses reproduksi sehingga dapat menimbulkan gangguan reproduksi. Adanya gangguan reproduksi baik pada hewan jantan maupun betina dapat mengakibatkan rendahnya efisiensi reproduksi, yang selanjutnya akan berpengaruh negative pada peningkatan jumlah populasi.

Hypoestrogen adalah kondisi yang menunjukkan rendahnya hormon estrogen pada tubuh, pada keadaan hypoestrogen terjadi penurunan fungsi ovarium yang akan mempengaruhi hormon Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH) yang memicu sintesis maupun pelepasan Follicle Stimulating Hormon (FSH) dan *Luteinizing Hormon* (LH) (Blaje, 2014). Ketika ovarium mengalami penurunan produksi estrogen, maka akan terjadi penurunan umpan balik kepada hipotalamus. Korpus luteum terbentuk di ovarium. Hal ini muncul dari sel-sel

granulosa yang tetap di dinding folikel yang pecah, setelah oosit telah diekstrusi ke dalam tabung uterus. Sel granulosa, bersama-sama dengan sel-sel teka interna, yang terovaskularisasi oleh pembuluh yang berada disekitarnya. Di bawah Pengaruh LH (*Luteinizing Hormone*), yang diproduksi oleh *Adenohipofisis*, sel-sel granulosa meningkat, sel-sel lutein dari korpus luteum mensekresikan progesteron dan estrogen. Estrogen yang diproduksi oleh korpus luteum menghambat pelepasan folikel stimulating hormone (FSH) dari hipofisis, mencegah pembentukan folikel dan beberapa ovulasi (Barros, 2006).

Fitoestrogen merupakan suatu senyawa yang bersifat estrogenik yang berasal dari tumbuhan. Fitoestrogen dapat digolongkan menjadi isoflavonoid dan lignin. Pada, wanita subur fitoestrogen akan bersaing dengan estrogen endogen untuk berikatan dengan reseptor estrogen. Mekanisme fitoestrogen dalam jaringan adalah berikatan pada reseptor estrogen dan mencegah pengikatan reseptor alami, namun memiliki potensi yang lebih kecil dari kekuatan estrogen alami. Mekanisme kerja dan potensi fitoestrogen tersebut menyebabkan terganggunya system neuroendokrin jika diberikan dalam dosis kronis pada masa pertumbuhan dengan lama paparan kronis berkisar 20-60 hari (Mardiati dan Agung, 2009).

Salah satu tumbuhan yang memiliki kandungan senyawa fitoestrogen adalah kecambah Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus*). Kecambah kacang hijau mempunyai kandungan senyawa isoflavon yang bermanfaat bagi tubuh. Fitoestrogen memiliki tiga jenis utama lignan, coumesta, dan isoflavon. Isoflavons sendiri memiliki empat jenis yang paling aktif yaitu daidzein, biochalcone, formononetin, dan genistein. Dalam kecambah, terkandung fitoestrogen yang

dapat berfungsi seperti estrogen bagi hewan betina. Menurut Cano (2000), pemberian fitoestrogen dapat meningkatkan tebal endometrium kemudian akan meningkatkan berat uterus secara keseluruhan. Proses proliferasi pada endometrium yang disebabkan oleh senyawa fitoestrogen akan menyebabkan penambahan berat uterus, maka korelasi antara keduanya akan berkorelasi signifikan dan positif. Artinya adalah, semakin tebal endometrium maka semakin menambah berat uterus. Berdasarkan latar belakang tersebut maka dapat diduga dengan pada kecambah kacang hijau berpotensi dalam meningkatkan kadar hormon estrogen, dengan dosis yang berbeda, memberikan pengaruh terhadap ketebalan dinding uterus. Hal ini, dapat dijadikan bahan rujukan dalam menangguhkan atau mengobati masalah gangguan reproduksi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) berpengaruh terhadap bobot uterus pada kelinci *New zealand white* (*Oryctolagus cuniculus*) pasca induksi hormone progesterone?
2. Apakah ekstrak kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) berpengaruh terhadap ketebalan dinding uterus pada kelinci *New zealand white* (*Oryctolagus cuniculus*) pasca induksi hormone progesterone.

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, penelitian ini dibatasi pada:

1. Hewan model yang digunakan adalah kelinci (*oryctolagus cuniculus*) betina dengan jenis *New Zealand White* yang diperoleh dari kelompok perternakan kelinci mandiri Desa Ngijo, Kec. Karang Ploso Malang dengan usia 10 bulan dan berat rata – rata 2 kg. Penggunaan hewan coba masih dalam proses mendapatkan sertifikat laik etik dari Komisi Etik Penelitian (KEP) Universitas Brawijaya.
2. Hewan coba untuk mendapatkan kondisi hypoestrogen dilakukan di Induksi hormone Progesteron dengan dosis $50 \text{ mg} \times 0,07 = 3,5 \text{ mg} / 1,5 \text{ kg BB}$, untuk kelinci dengan berat 2 kg didapatkan perhitungan dosis $3,5 / 1,5 \times 2 = 4,6 \text{ mg} / 2 \text{ kg BB}$ yang di berikan selama 7 hari secara intramuscular (Narulita, 2016).
3. Ekstrak kecambah kacang hijau didapat dari penyemaian kacang hijau selama 7 hari kemudian di ekstrak menggunakan ethanol 90%. Pemberian terapi ekstrak kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) kepada kelinci dengan dengan berat rata-rata 2 kg di lakukan pemberian dosis pada P1 0,92 g / kg BB dan pada P2 di berikan dosis 1,84 g /kg BB.
4. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah berat uterus yang diukur menggunakan timbangan digital dan pengukuran ketebalan dinding uterus dilakukan secara mikroskopis dan dilakukan pengamatan dengan pembuatan preparat histologi uterus menggunakan pewarnaan HE (*Hematoxylin Eosin*).

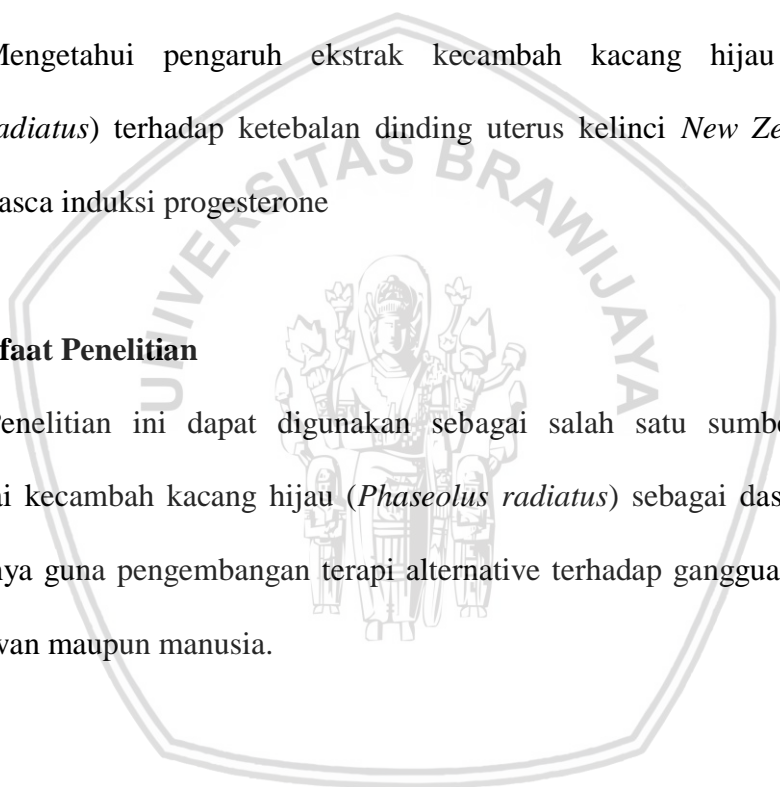
1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui pengaruh ekstrak kecambah kacang hijau(*Phaseolus radiatus*) terhadap berat uterus kelinci *New Zealand White* pasca induksi progesteron.
2. Mengetahui pengaruh ekstrak kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap ketebalan dinding uterus kelinci *New Zealand White* pasca induksi progesterone

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dapat digunakan sebagai salah satu sumber informasi mengenai kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) sebagai dasar penelitian selanjutnya guna pengembangan terapi alternative terhadap gangguan reproduksi pada hewan maupun manusia.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kelinci *New Zealand White*

Kelinci telah dikenal sejak dahulu sebagai hewan percobaan, terutama untuk pengujian obat–obatan atau yang berkaitan dengan penyakit manusia. Hal ini terjadi karena fisiologi kelinci mirip dengan manusia, sebagai hewan mamalia monogastrik. Diantara berbagai jenis kelinci, hanya jenis *New Zealand White* yang memenuhi persyaratan, karena kelinci *New Zealand White* telah lebih terseleksi (seragam) dibandingkan dengan jenis–jenis kelinci lainnya. Kelinci *New Zealand White* sebagai hewan percobaan banyak dibutuhkan oleh rumah sakit–rumah sakit, laboratorium farmasi dari pabrik–pabrik obat dan juga fakultas kedokteran atau kedokteran hewan.

Ras *New Zealand* merupakan kelinci albino yang memiliki ciri fisik. Bulu berwarna putih halus, padat, tebal, dan matanya berwarna merah. Kelinci *New Zealand White* berasal dari New Zealand, sehingga disebut *New Zealand White*. Keunggulan dari kelinci adalah pertumbuhannya yang cepat sehingga cocok untuk ditanakkan sebagai penghasil daging komersil (Hustamin, 2006).

Ciri–ciri jenis kelinci ini adalah mempunyai dada yang penuh, badanya medium namun terlihat bundar dan gempal, kaki depan agak pendek, kepala besar agak bundar, telinga agak besar dan tebal dengan ujungnya yang sedikit membulat, serta bulunya sangat tebal dan halus (**Gambar 2.1**) (Raharjo *et al.*, 2005). Kelinci pertama kali dapat dikawinkan setelah mencapai dewasa kelamin yaitu pada umur 5–6 bulan. Kelinci memiliki siklus estrus 15–20 hari

dengan periode estrusnya 11-15 hari (Lucia,2008). Masa kebuntingan kelinci mencapai 28 sampai 34 hari, Pasca partus kelinci dapat dikawinkan lagi pada 7-14 hari setelah partus. Perkawinan dengan cara ini akan memperpendek selang beranak. Selang beranak yaitu waktu yang dibutuhkan oleh induk dari satu waktu beranak ke beranak berikutnya (Rahardjo *et al.*, 2004). Berikut merupakan taksonomi dari hewan kelinci :

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Phylum	: <i>Chordata</i>
Sub Phylum	: <i>Vertebrata</i>
Kelas	: <i>Mamalia</i>
Ordo	: <i>Lagomorpha</i>
Family	: <i>Leporidae</i>
Genus	: <i>Orytolagus</i>
Spesies	: <i>Orytolagus cuniculus</i> (Tislerics,2008)

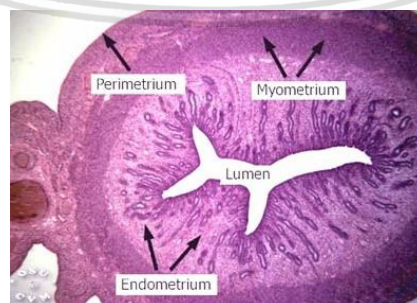


Gambar 2.1 Kelinci New Zealand White (Sarwono, 2003)

2.2 Sistem Reproduksi Kelinci Betina

Sistem reproduksi betina dapat dibagi menjadi alat kelamin primer yaitu ovarium dan alat kelamin sekunder yang merupakan saluran reproduksi betina terdiri atas : (1) infundibulum, (2) oviduk atau tuba falopii, (3) uterus yang terbagi menjadi korpus uteri, serviks uteri, (4) vagina, (5) alat kelamin luar yaitu vulva terdiri atas klitoris, labia mayor, dan labia minor (Mc Donalds, 2003). Saluran reproduksi betina berfungsi menerima sel telur yang diproduksi ovarium, menampung semen yang dipancarkan oleh alat kelamin jantan, tempat pertemuan spermatozoa dengan ovum, dan tempat pertumbuhan makhluk baru sampai saat melahirkan (Mc Donalds, 2003).

Pada kelinci betina, uterus memiliki dua buah serviks, dua buah korpus yang terpisah secara sempurna, dan tanpa korpus uteri. Uteri tipe ini biasa disebut uterus tipe dupleks (Hardjopranjoto, 2002). Dellman (2008) menyatakan bahwa uterus dilapisi oleh dinding yang terbagi menjadi tiga bagian yakni lapisan serosa pada bagian luar (Perimetrium), lapisan otot polos pada bagian tengah (Miometrium), dan lapisan mukosa (Endometrium).



Gambar 2.2 Histologi Uterus Pewarnaan HE (William and Wilkins, 2008)

2.3 Uterus

Uterus merupakan organ muskular berongga pada mamalia betina, tempat normal tertanamnya telur yang telah dibuahi dan tempat pemeliharaan embrio dan janin yang sedang berkembang (Dorlan, 2002). Uterus adalah suatu struktur otot yang cukup kuat, bagian luarnya ditutupi oleh peritoneum sedangkan rongga dalamnya dilapisi oleh mukosa rahim (Rustam, 2008). Uterus adalah organ berdinding tebal, muskular, pipih, cekung yang tampak mirip buah pir terbalik, dengan kata lain, uterus merupakan organ yang dimiliki oleh wanita dan mamalia betina yang berbentuk buah pir dan berguna sebagai tempat bertumbuh dan berkembangnya janin (Bobak, 2004)

Perubahan-perubahan yang terjadi pada uterus dapat bersifat fisiologi dan patologi. Fisiologi diatur oleh naik turunnya kadar hormon hipofisis dan ovarium sedangkan patologi dapat bersifat infeksi disebabkan oleh faktor mekanis, fisis, dan genetis. Perubahan yang terjadi pada uterus yaitu terutama terletak pada dinding uterus tersebut (Hardjopranjoto, 2002).

A. Lapisan Mucosa Uterus (Endometrium)

Endometrium terdiri dari dua zona yang berbeda struktur dan fungsi. Lapisan superfisial disebut zona fungsional, mengalami degenerasi sebagian atau seluruhnya setelah kebuntingan atau setelah estrus. Suatu lapisan dalam tipis, zona basal, tetap bertahan sepanjang siklus. Bila zona fungsional hilang, dapat diganti oleh lapisan tersebut (Dellman, 2005).

B. Lapisan Otot Polos Uterus (Miometrium)

Miometrium merupakan lapisan dalam tebal yang umumnya tersusun melingkar (sirkuler) dan lapisan luar memanjang (longitudinal) dan terdiri dari sel-sel otot polos yang meningkat jumlah dan ukurannya selama kebuntingan. Diantara lapisan tersebut atau bagian dalam dari lapisan dalam terdapat lapisan vaskuler yang mengandung arteria besar, vena, serta pembuluh limfe (Dellman, 2005). Lapisan vaskuler tersebut terisi oleh pembuluh darah penting untuk mensuplai darah ke uterus. Otot polos pada miometrium mampu tumbuh sangat panjang selama kebuntingan serta tanggap (responsif) terhadap hormon pada saat kelahiran dan kadang-kadang pada saat lain menyebabkan uterus berkontraksi (Nalbandov, 2006)

C. Lapisan Serosa Uterus (Perimetrium)

Perimetrium terdiri dari jaringan ikat longgar yang dibaut oleh peritoneum atau mesothelium. Sel otot polos terdapat dalam perimetrium. Lapisan ini banyak mengandung pembuluh limfe, pembuluh darah dan saraf (Dellman, 2005).

2.4 Hormon–Hormon Reproduksi

2.4.1 Hormon Progesteron

Progesteron adalah hormon yang dibentuk oleh corpus luteum, placenta (dimulai dari bulan ke tiga kehamilan pada manusia), testes dan korteks anak-ginjal (jantan dan betina) di bawah pengaruh FSH/LH dari

hipofisis. Sebaliknya kadar Progesteron dan estrogen dalam darah melalui mekanisme feedback turut menentukan banyaknya sekresi GnRH dan Gonadotropin tersebut. Progesteron berdaya menginduksi peralihan endometrium dari fase proliferasi (pengaruh estrogen) ke fase sekresi zat-zat gizi, agar telur yang sudah dibuahi bisa bersarang dan berkembang menjadi janin (implantasi). Selanjutnya progesteron bertugas memelihara kehamilan atau kebuntingan (Tjay dan Rahardja, 2007).

2.4.2 Hormon Estrogen

Hormon estrogen termasuk hormon steroid kelamin, karena mempunyai struktur kimia berinti steroid dan secara fisiologik sebagian besar diproduksi oleh kelenjar endokrin system reproduksi (Suherman, 2005). Hormon estrogen memiliki tiga unsur utama yaitu estradiol ($C_{18}H_{27}O_3$). Estrogen ditranspor di dalam darah dalam bentuk berikatan dengan protein. Dari semua hormon steroid, estrogen mempunyai fungsi fisiologik yang paling luas (Ismudiono, 2000).

Estrogen memiliki peranan dalam proses reproduksi antara lain pada sistem saraf pusat dalam menginduksi tingkah laku birahi pada betina, meskipun untuk itu diperlukan sedikit kadar progesteron. Estrogen dapat pula bereaksi terhadap uterus untuk meningkatkan masa endometrium dan miometrium dalam bentuk hiperplasia dan hipertropia. Fungsi lain terhadap uterus adalah estrogen mampu meningkatkan amplitude dan frekuensi kontraksi oleh pengaruh oksitosin dan prostaglandin. Estrogen

juga berfungsi dalam perkembangan seks sekunder pada betina (Ismudiono, 2000).

Hafez (2003) menyatakan bahwa fungsi estrogen pada organ reproduksi diantaranya menyebabkan dinding tuba fallopi dan fimbriae bergerak lebih aktif. Pada uterus menyebabkan kontraksi dari myometrium, meningkatkan suplai darah serta pertumbuhan kelenjar dan mukosa uterus. Pada saat praestrus dan estrus menyebabkan relaksasi serviks. Estrogen juga menyebabkan proliferasi mukosa vagina, permukaan vagina yang basah, merah dan sel epitel mengalami penandukan. Efek pada vulva adalah bengkak karena adanya pembendungan aliran darah, berwarna merah karena suplai darah berlebih dan hangat karena terjadi peningkatan konsentrasi suhu pada daerah sekitarnya.

Estrogen selain berpengaruh terhadap reproduksi juga memiliki efek non reproduksi seperti efek antagonis dan hormon paratiroid, dimana estrogen dapat meminimalkan kekurangan kalsium dari tulang serta menjaga tulang tetap kuat (Biology Pages, 2005), hal ini dikarenakan estrogen dapat merangsang masukan atau uptake kalsium dan penulangan dari tulang, dimana estrogen menyebabkan pemaskan dari epifiseal pertumbuhan tulang rawan. Sebaliknya pada ruminansia estrogen juga mempunyai efek protein anabolisme yang menyebabkan peningkatan pertumbuhan dan perkembangan. Hal ini berhubungan dengan estrogen merangsang pelepasan GH dari hipofisa anterior (Ismudiono, 2000).

Hormon estrogen menyebabkan selaput lendir uterus menebal dan juga menyebabkan kelenjar hipofisa berhenti memproduksi FSH yang dikenal dengan mekanisme berhenti memproduksi FSH yang dikenal dengan mekanisme feed back negative. Estrogen dapat merangsang kelenjar hipofisa untuk menghasilkan hormon LH. Hormon LH menyebabkan terjadinya ovulasi yaitu folikel pecah dan telur keluar dari folikel terus masuk ke dalam oviduk di dekatnya. Folikel yang pecah menjadi badan kuning yang disebut korpus luteum. Korpus luteum ini mengeluarkan hormon progesteron yang berfungsi mempercepat pertumbuhan kelenjar-kelenjar dan pembuluh-pembuluh darah dalam selaput lender uterus. Hal tersebut menyebabkan dinding uterus makin me-

Estrogen yang berasal dari tumbuhan disebut isoflavon ditemukan terutama pada golongan leguminosae misalnya kedelai, dua komponen pada isoflavon yang menyebabkan infertilitas adalah coumestrol dan genistein (Ismudiono, 2009).

2.5 Fase luteal

Pada fase luteal, jika terjadi ovulasi maka endometrium akan mengalami perubahan yang nyata, kecuali pada awal dan akhir masa reproduksi, Perubahan ini mulai pada 2 hari terakhir fase proliferasi, tetapi meningkat secara signifikan setelah ovulasi. Vakuol-vakuol sekretorik yang kaya glikogen tampak di dalam sel-sel yang melapisi kelenjar endometrium.

Pada mulanya vakuol-vakuol tersebut terdapat di bagian basal dan menggeser inti sel ke arah superfisial. Jumlahnya cepat meningkat dan kelenjar

menjadi berkelok –kelok. Pada hari ke enam setelah ovulasi, fase sekresi mencapai puncak. Vakuol– vakuol telah melewati nukleus. Beberapa di antaranya telah mengeluarkan mucus ke dalam rongga kelenjar. Arteri spiral bertambah panjang dengan meluruskan gulungan Apabila tidak ada kehamilan, sekresi estrogen dan progesteron meningkat karena korpus luteum menjadi tua. Penuaan ini menyebabkan peningkatan asam arakidonat dan endoperoksidase bebas di dalam endometrium.

Enzim–enzim ini menginduksi lisosom sel stroma untuk mensintesis dan mensekresi prostaglandin ($\text{PGF}_2\alpha$ dan PGE_2) dan prostasiklin. $\text{PGF}_2\alpha$ merupakan suatu vasokonstriktor yang kuat dan menyebabkan kontraksi uterus, PGE_2 menyebabkan kontraksi uterus dan vasodilatasi, sedangkan prostasiklin adalah suatu vasodilator, yang menyebabkan relaksasi otot dan menghambat agregasi trombosit. Perbandingan $\text{PGF}_2\alpha$ dengan kedua prostaglandin meningkat selama menstruasi. Perubahan ini mengurangi aliran darah melalui kapiler endometrium dan menyebabkan pergeseran cairan dari jaringan endometrium ke kapiler, sehingga mengurangi ketebalan endometrium. Hal ini disebut menyebabkan bertambahnya kelokan arteri spiral bersamaan dengan terus berkurangnya aliran darah, Daerah endometrium yang disuplai oleh arteri spiral menjadi hipoksik, sehingga terjadi nekrosis iskemik. Daerah nekrotik dari endometrium mengelupas ke dalam rongga uterus disertai dengan darah dan cairan jaringan, sehingga menstruasi terjadi.

2.6 Kecambah/Kecambah Kacang Hijau (*Phaseolus Radiatus*)

Kecambah adalah tumbuhan kecil yang baru tumbuh dari biji kacang-kacangan yang disemaikan atau melalui perkecambahan. Perkecambahan merupakan suatu proses keluarnya bakal tanaman tunas dari lembaga. Proses ini disertai dengan mobilisasi cadangan makanan dari jaringan penyimpanan atau keping biji ke bagian vegetatif (sumber pertumbuhan embrio atau lembaga). Germinasi selama 2 hari dapat menghasilkan kecambah dengan panjang mencapai 4 cm, dan dalam 3-5 hari dapat mencapai 5-7 cm. Kecambah yang dibuat dari biji kacang hijau disebut kecambah (Andersen, 2006).

Taksonomi dan klasifikasi kacang hijau menurut Plantamor yaitu:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Super divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Subkelas	: <i>Rosidae</i>
Bangsa	: <i>Rosales</i>
Suku	: <i>Papilionaceae</i>
Marga	: <i>Phaseolus</i>
Spesies	: <i>Phaseolus Radiatus</i> Linn

Tanaman kacang hijau merupakan tanaman yang dapat tumbuh hampir di seluruh tempat di Indonesia, baik di dataran rendah hingga daerah

dengan ketinggian 500 meter di atas permukaan laut. Dalam perdagangan kacang hijau di Indonesia, terdapat dua macam berdasarkan mutunya, yaitu kacang hijau biji besar dan biji kecil. Kacang hijau biji besar digunakan untuk bubur dan tepung, sedangkan kacang hijau berbiji kecil digunakan untuk pembuatan kecambah (Andersen, 2006).



Gambar 2.3 Perkecambahan Kacang Hijau (Shetty *et al.*, 2000).

Kacang hijau termasuk dalam golongan Leguminosae yang merupakan tanaman dikotil (memiliki dua keping biji) yang kaya zat gizi sebagai cadangan makanan bagi lembaga (embrio) selama germinasi (proses perkecambahan). Buah kacang hijau merupakan polong bulat memanjang antara 6-15 sentimeter. Warna buahnya hijau ketika masih muda dan ungu tua setelah cukup tua. Di dalam setiap buah terdapat 5-10 biji kacang hijau (Astawan, 2005; Gsianturi, 2003). Kandungan gizi yang terdapat pada kacang hijau dan kecambah per 100 gram berat kering dapat dilihat pada **Tabel 2.1**

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Kacang Hijau dan Kecambah per 100 gram Berat Kering (Persagi, 2009).

No	Jenis Gizi	Satuan	Kacang	Kecambah
1	Energi	G	832	354
2	Karbohidrat	g	67,22	44,79
3	Protein	g	27,1	38,54
4	Lemak	g	1,78	12,5
5	Serat	mg	8,88	11,46
6	Kalsium	mg	263,91	1729,17
7	Fosfor	mg	377,51	770,83
8	Besi	mg	8,88	8,33
9	Natrium	mg	-	-
10	Kalium	mg	-	-
11	Karoten	µg	263,91	208.33
12	Thiamin	mg	0,54	0,94
13	Riboflavin	mg	0,18	1,56
14	Niasin	mg	1,78	11,46
15	Vitamin C	mg	11,83	52,08

Kacang hijau, sebagai golongan kacang-kacangan, mengandung senyawa anti gizi, antara lain: antitripsin, hemaglutinin atau lektin, oligosakarida, dan asam fitat (Gsianturi, 2003). Kacang hijau juga mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan dengan kacang-kacangan lainnya, yaitu kandungan antitripsin yang sangat rendah, paling mudah dicerna, dan paling kecil memberi pengaruh flatulensi (Anggrahini, 2009). Perkecambahan kacang hijau dipengaruhi oleh kondisi tempat kacang hijau dkecambahkan. Faktor-

faktor lingkungan yang berpengaruh adalah air, gas, suhu, dan cahaya. Temperatur optimal untuk perkecambahan adalah 34°C. Biji kacang hijau dapat berkecambah apabila berada dalam lingkungan yang memenuhi syarat untuk perkecambahan, yaitu kandungan air kacang hijau dan kelembaban udara sekeliling harus tinggi. Kadar air biji kacang hijau berkisar 5-15%, pada kadar air ini kelembaban terlalu rendah untuk berlangsungnya metabolisme sehingga tahap perkecambahan adalah kadar air biji kacang hijau harus dinaikkan dengan cara dilakukan perendaman atau ditempatkan pada lingkungan yang jenuh uap air (Anggrahini, 2009; Kessman, 2006).

Kandungan zat gizi pada biji sebelum dikecambahkan berada dalam bentuk tidak aktif atau terikat. Setelah perkecambahan, bentuk tersebut diaktifkan sehingga meningkatkan daya cerna. Peningkatan zat-zat gizi pada kecambah mulai tampak sekitar 24 - 48 jam saat perkecambahan. Pada saat perkecambahan, terjadi hidrolisis karbohidrat, protein, dan lemak menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana sehingga mudah dicerna tubuh. Walaupun beberapa kandungan gizi dalam kecambah memiliki kadar lebih rendah dibandingkan biji kacang hijau, tetapi kandungan gizi tersebut dalam bentuk senyawa terlarut yang lebih mudah diserap tubuh (Anggrahini, 2009; Astawan, 2005). Kecambah mempunyai kandungan beberapa antioksidan maupun zat yang berhubungan dengan antioksidan. Kadar terbanyak kandungan tersebut dalam kecambah adalah fitosterol dan vitamin E, walaupun fenol dan beberapa mineral (selenium, mangan, tembaga, zinc, dan besi) juga

memiliki jumlah yang cukup bermakna (Astawan, 2005; Shetty *et al.*, 2000; Winarsi, 2007).

Vitamin yang ditemukan dalam jumlah bermakna dalam kecambah adalah vitamin C, thiamin, riboflavin, niasin, asam pantothenik, vitamin B6, folat, kolin, β -karoten, vitamin A, vitamin E (α -tokoferol), dan vitamin K. Mineral yang ditemukan dalam jumlah bermakna dalam kecambah adalah kalsium (Ca), besi (Fe), magnesium (Mg), fosfor (P), potasium (K), sodium (Na), zinc (Zn), tembaga (Cu), mangan (Mn), dan selenium (Se). Asam amino esensial yang terkandung dalam kecambah, antara lain: triptofan 1,35 %, treonin 4,50 %, fenilalanin 7,07 %, metionin 0,84 %, lisin 7,94 %, leusin 12,90 %, isoleusin 6,95 %, dan valin 6,25 %, selain itu juga terdapat sistein, tirosin, arginin, histidin, alanin, glisin, prolin, serta serin (Amilah dan Astuti, 2006; USDA, 2009).

Kecambah merupakan pangan yang rendah kadar lemak, kaya vitamin C, serta memiliki folat dan protein yang dapat memperkecil resiko timbulnya penyakit kardiovaskular dan merendahkan LDL dalam darah. Dalam kecambah, terkandung fitoestrogen yang dapat berfungsi seperti estrogen bagi wanita. Estrogen tersebut dapat meningkatkan kepadatan dan susunan tulang, serta mencegah kerapuhan tulang (osteoporosis) khususnya bagi wanita yang berada pada masa menopause. Konsumsi kecambah juga dapat membantu wanita terhindar dari kanker payudara, gangguan menjelang menstruasi, keluhan semburat panas pada pra- menopause, dan gangguan akibat menopause. Tidak hanya itu, kecambah juga memiliki kemampuan mengurangi resiko terkena

arthritis, memperlancar pencernaan, reproduksi, dan saluran kelenjar (glandular). Pada beberapa jenis kecambah, terkandung senyawa fitokimia dalam jumlah besar dan salah satunya adalah kanavanin. Senyawa ini banyak ditemukan pada kecambah alfalfa dan bermanfaat untuk mencegah kanker darah, kanker usus besar, dan kanker pancreas. Selain kanavanin, senyawa anti-kanker lain yang terkandung di dalam kecambah adalah *daidzein* dan “genistein”. Senyawa genistein secara efektif menghambat pasokan gizi (makanan) untuk sel-sel kanker sehingga membunuh sel kanker dalam tubuh. Selain itu, di dalam kecambah juga terkandung saponin yang dapat meningkatkan imunitas tubuh dengan menstimulasi interferon dan sel limfosit (Astamawan, 2004).

2.7 Fitoestrogen

Fitoestrogen merupakan obat alternatif yang umumnya berasal dari tumbuh-tumbuhan (alamiah), yang tidak lain adalah estrogen-likes substances (disebut herbal estrogen). Golongan fitoestrogen ini memiliki rumus bangun kimiawi sangat berbeda dengan estrogen, namun khasiat maupun “perilakunya” sangat mirip estrogen. Khasiat estrogen dapat terjadi karena fitoestrogen juga memiliki dua gugus OH/hidroksil yang berjarak 11-11,5 Angstrom pada intinya sama persis dengan inti estrogen itu sendiri (Tapan, 2003).

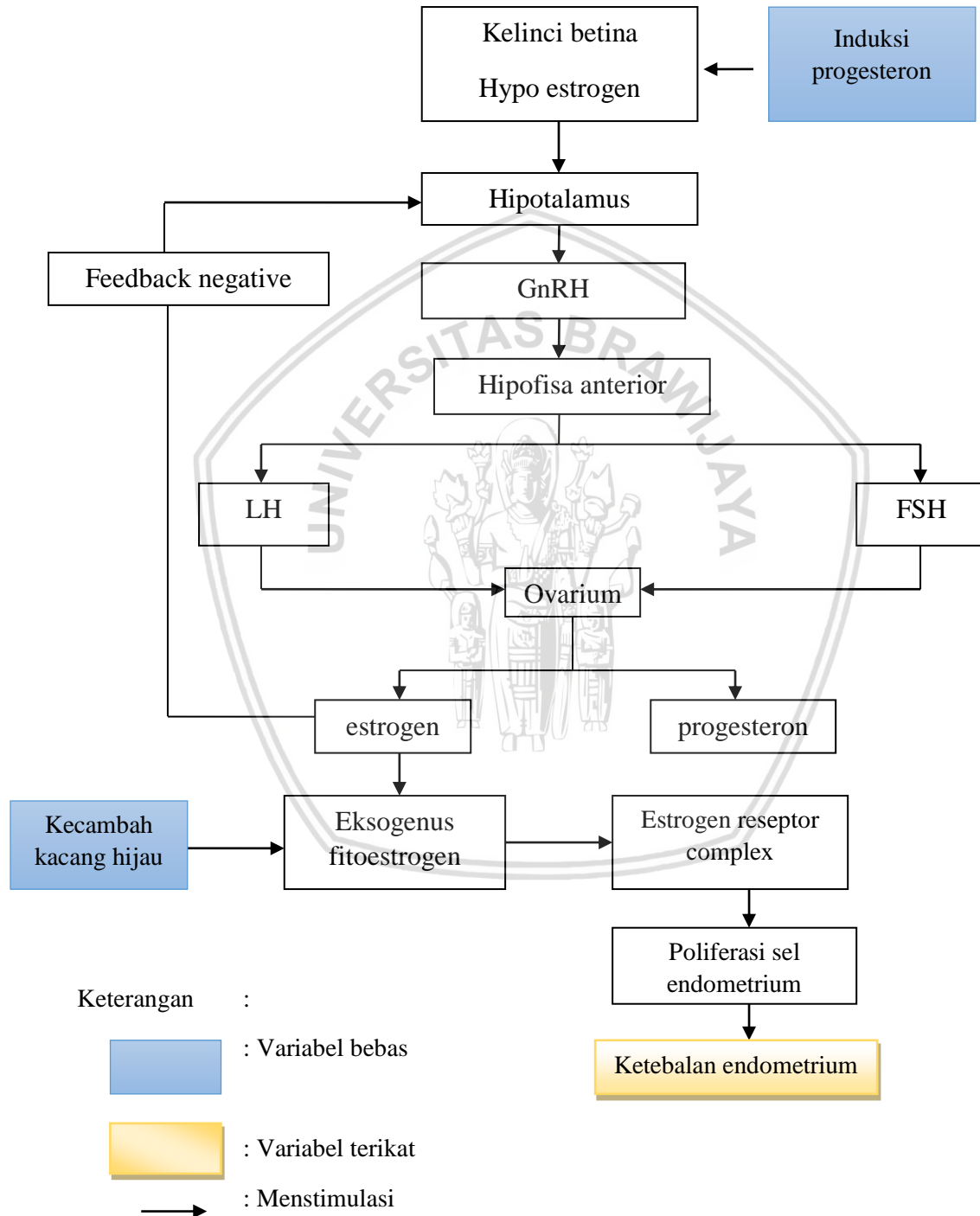
Fitoestrogen diyakini tidak memiliki efek samping berarti bila dibanding dengan estrogen biasa atau estrogen yang dihasilkan dalam tubuh karena berasal dari tumbuh-tumbuhan. Beberapa senyawa fitoestrogen yang diketahui banyak terdapat dalam tanaman antara lain isoflavon, yang terdapat pada buah-buahan, teh hijau, Ignans pada biji-bijian gandum maupun wijen,

Coumestans banyak terdapat pada kacang-kacangan, biji bunga matahari, Tripterpene glycosides yang banyak terkandung pada tanaman Cimifuga racemosa (sering disebut sebagai tanaman black cohosh), tumbuh di hutan-hutan Amerika Selatan, dan senyawa-senyawa berefek estrogeniklain yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, seperti flavones, coumarins, dan sebagainya (Tapan, 2003).

Mekanisme biologis fitoestrogen dalam tubuh hewan maupun manusia terdiri atas: 1) efek antiestrogenik, dimana efek tersebut terjadi bila kadar estrogen dalam tubuh tinggi (seperti pada hewan muda) dan menyebabkan kompetisi antara fitoestrogen dan estrogen tubuh, tingginya kadar estrogen tubuh menyebabkan aktifitas yang dimiliki oleh fitoestrogen berkurang, 2) efek proestrogenik, terjadi pada wanita menopause dimana kadar estrogen tubuh rendah, sehingga fitoestrogen akan berikatan dengan reseptor estrogen (Phapros, 2006). Respon mana yang terjadi tergantung pada seberapa banyak estrogen tubuh diproduksi dan seberapa banyak reseptor estrogen yang telah dipenuhi (Tapan, 2003).

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1 KERANGKA KONSEPTUAL



Adanya progesteron eksogen yang diinduksikan ke dalam tubuh menyebabkan konsentrasi hormon progesteron di dalam tubuh meningkat. Pemberian eksrak dan hormon ini menyebabkan *feedback negative* GnRH karena terjadinya penurunan akibat hypoestrogen dalam pelepasan *follicle-stimulating hormone* (FSH) dan *luteinizing hormone* (LH). FSH berperan terhadap pembentukan foliikel ovarium. Hormon estrogen yang telah mencapai kadar puncaknya akan memberikan *feedback positif* ke hipofisa anterior untuk pelepasan LH, kadar LH yang meningkat akan menyebabkan terjadinya ovulasi. Setelah terjadi ovulasi, kadar LH menurun dengan cepat namun tidak sampai batas minimum untuk merangsang sel teka interna dalam membentuk korpus luteum. Korpus luteum memproduksi hormon progesteron yang menekan aktivitas dari estrogen. Peningkatan estrogen dapat juga proliferasi dari jaringan uterus sehingga dapat menyebabkan ketebalan dinding uterus berubah dan berat jenis uterus berubah. Perkembangan uterus ditunjukkan dengan perubahan ukuran tebal endometrium, yang dapat dibedakan menjadi dua fase utama yaitu fase proliferasi dan fase sekresi.

Kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) memiliki kandungan fitoestrogen didalamnya. Fitoestrogen merupakan suatu senyawa yang bersifat estrogenik yang berasal dari tumbuhan. Senyawa fitoestrogen di dalam kacang hijau termasuk dalam isoflavan. Fitoestrogen yang masuk ke dalam tubuh akan dicerna oleh tubuh dan melalui aliran darah akan menuju organ target. Di dalam organ target berupa ovarium, fitoestrogen akan berikatan dengan reseptor estrogen (ER). Fitoestrogen yang berikatan dengan ER berupa

reseptor estrogen-beta pada sel target akan menyebabkan kompleks fitoestrogen-reseptor menjadi aktif ditranslokasikan ke inti sel menyebabkan terjadinya sintesis protein dan menimbulkan respon seluler.

3.2 HIPOTESIS PENELITIAN

Berdasarkan rumusan masalah yang telah ada, maka hipotesis yang dapat diajukan adalah sebagai berikut:

- 1 Pemberian Ekstrak kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) dapat meningkatkan bobot uterus pada kelinci *New zealand white* (*Oryctolaguscuniculus*) pasca induksi hormone progesterone?
- 2 Pemberian ekstrak kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) dapat meningkatkan ketebalan dinding endometrium pada kelinci *New zealand white* (*Oryctolagus cuniculus*) pasca induksi hormon progesterone.

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April - Juli 2016. Pemeliharaan dan pemberian terapi ekstrak kecambah kacang hijau dilaksanakan di Peternakan kelinci Mandiri Karangploso Malang.. Eutanasi, pengkoleksian sampel, dan pengukuran berat uterus dilakukan di Laboratorium Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya, dan pembuatan preparat histologi Hematoxin-Eosin dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

4.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kandang kelinci, botol minuman kelinci, tempat pakan, *sput* 1cc dan 3cc, pot organ, alat bedah lengkap, timbangan digital, *objek glass*, cover glass, water bath, dan mikroskop cahaya.

4.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Hewan coba kelinci jenis *New Zealand White* Betina yang berusia 5 bulan, pakan kelinci, ekstrak kecambah kacang hijau, hormon Progesteron. formalin 10%, NaCl Fisiologis, etanol, pewarna histologi Hematoksilin-Eosin, alkohol 70%, alkohol 80%,

alkohol 90%, alkohol 95%, paraffin, xylol, chloroform, alkohol absollut, dan entelan.

4.3 Prosedur Kerja

4.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Hewan coba di bagi menjadi 4 kelompok penelitian seperti pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Rancangan Kelompok Perlakuan

Kelompok	Perlakuan
KN	Kontrol Negatif
KP	Kontrol Positif / Kelinci yang di Induksi Hormon <i>Progesteron</i>
P1	Kelompok Kelinci yang di Induksi Hormon <i>Progesteron</i> di beri terapi ekstrak kecambah kacang hijau dengan dosis 0,92 g /kg BB
P2	Kelompok Kelinci yang di Induksi Hormon <i>Progesteron</i> di beri terapi ekstrak kecambah kacang hijau dengan dosis 1,84 g/ kg BB

Adapun jumlah ulangan dalam penelitian ini dihitung berdasarkan rumus (Suntoyo, 2010):

$$p(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5$$

Keterangan: p = perlakuan

n = ulangan

Berdasarkan perhitungan diatas maka dalam penelitian ini terdiri dari 4 kelompok perlakuan dengan 5 ulangan. Jadi dalam penelitian ini membutuhkan kelinci sebanyak 20 ekor dengan masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 5 ekor kelinci.

4.3.2 Varibel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini antara lain:

Variabel kontrol : jenis kelamin, berat badan, umur, pakan, air minum, suhu lingkungan, kelembaban lingkungan, dan kandang.

Variabel tergantung : berat uterus dan ketebalan dinding uterus

Variabel bebas : dosis terapi ekstrak kecambah kacang hijau dan hormon progesterone.

4.3.3 Persiapan Hewan Coba

Kelinci dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan. Masing-masing perlakuan terdiri dari 5 ekor kelinci. Kelinci di adaptasi terhadap

lingkungan selama 3 hari dengan pemberian pakan normal 100 gr/ekor per hari. Kandang kelinci menggunakan kandang yang mudah untuk di bersihkan.

4.3.4 Pembuatan Ekstrak Kecambah Kacang Hijau

Kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) yang berumur 48 jam ditimbang sebanyak 1 kg dan dikering anginkan sampai kering. Kecambah yang kering dihaluskan dengan blender, lalu direndam dengan etanol 90% sebanyak 1 L selama satu malam. Fraksi etanol dipisahkan dari serbuk kecambah yang telah direndam dengan cara disaring. Dilakukan evaporasi etanol dengan menggunakan *rotary evaporator* selama 2 hari dan hasilnya berupa ekstrak etanolik kecambah (Aditya,2010).

4.3.5 Metode Perlakuan

4.3.5.1 Induksi Hormon Progesteron

Pemberian perlakuan dimulai pada awal bulan April pada saat Kelinci mengalami fase estrus. Dosis progesteron di manusia adalah 25-50 mg lalu di konversikan pada kelinci sehingga di dapati perhitungan dosis $50 \text{ mg} \times 0,07 = 3,5 \text{ mg} / 1,5 \text{ kg BB}$, untuk kelinci dengan berat 2 kg didapatkan perhitungan dosis $3,5 / 1,5 \times 2 = 4,6 \text{ mg} / 2 \text{ kg BB}$ yang di berikan selama 7 hari secara Intra Muskular (Narulita, 2016).

4.3.5.2 Pemberian Ekstrak Kecambah Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus*)

Kelinci diberi terapi ekstrak kecambah kacang hijau setelah 3 hari pasca induksi progesterone. Pemberian terapi ekstrak kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) kepada kelinci dengan dengan berat rata-rata 2 kg berdasarkan metode yang diterapkan Bekow and Baumans (2003) dilakukan secara per oral sebanyak 5 mL pada kelompok kelinci P1 terapi ekstrak kecambah kacang hijau dosis 0,92 g/kg BB dan kelompok kelinci P2 terapi ekstrak kecambah kacang hijau dosis 1,84 g/kg BB. Terapi ekstrak kecambah kacang hijau diberikan secara per oral dengan disonde melalui sonde modifikasi langsung ke lambung selama 14 hari.

4.3.6 Pembedahan Hewan Coba

Pembedahan hewan coba dimulai dengan melakukan esutanasi pada kelinci, kemudian dilakukan desinfeksi menggunakan alkohol 70%. Selanjutnya dilakukan pembedahan secara laparatomi medial, dengan cara melakukan sayatan pada medial abdomen melalui linea alba. Kemudian dicari organ uterus yang berada pada abdomen kelinci, selanjutnya uterus di bersihkan menggunakan aquades kemudian dilakukan penimbangan, dan disimpan dalam formalin 10 % untuk pembuatan preparat histopatologi.

4.3.7 Pembuatan Preparat Histologi Uterus

Jaringan uterus yang sudah dikoleksi diproses dengan fiksatif yang akan menjaga agar sediaan tidak akan rusak. Fiksatif yang digunakan adalah formalin 10%. Kemudian jaringan dipindahkan kedalam alkohol 70% sebagai *stopping point*. Kemudian dilakukan proses penarikan air dari jaringan (dehidrasi) menggunakan alkohol dengan konsentrasi bertingkat mulai 80% sampai dengan 100%. Lalu jaringan dijernihkan dengan xylol (*clearing*) dan ditanam dalam parafin (*embedding*). Blok parafin yang berisi organ uterus diiris 6 μ m menggunakan mikrotom. Irisan ditempel pada kaca obyek menggunakan Mayers albumin dan dibiarkan selama 24 jam agar menempel kuat. *Staining* dan *mounting* dilakukan dengan memulas sediaan dengan *Haematoxylin Ehrich Eosin* dengan urutan: Sediaan dicelup dalam larutan xylol bak 1 selama 2 menit. Pindahkan dalam larutan xylol II selama 2 menit. Dalam alkohol absolut 2 bak, bak I dan bak II, masing-masing 1 menit. Dalam alkohol 95% 2 bak, bak I dan bak II, masing-masing 1 menit. Cuci dalam air mengalir selama 10 menit. Masukkan dalam larutan mayer hemotoksilin selama 15 menit. Cuci kembali dengan air. Masukkan ke dalam eosin antara 15 detik sampai 2 menit. Masukkan dalam alkohol (95% 2 bak, bak I dan bak II, masing-masing 1 menit Dalam alkohol absolut 3 bak, bak I, bak II, masing-masing 2 menit Terakhir dalam xylol bak I, bak II, masing-masing 2 menit. Lalu di Mounting.

4.3.8 Teknik Pengamatan

1. Penimbangan uterus

Uterus yang diperoleh setelah kelinci yang dieutanasia dan dilakukan pembedahan dengan teknik laparotomi dan diambil uterus yang kemudian ditimbang dengan timbangan digital.

2. Pengukuran Ketebalan Endometrium uterus

Pengamatan dilakukan setelah terbentuknya preparat dari jaringan uterus kelinci yang diamati secara histologis menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 40 kali dan dibuat foto dari preparat histologi tersebut. Penghitungan preparat histologi uterus yang telah dilakukan, diamati menggunakan software OlyVIA (*Olympus Viewer for Image Applications*) dengan mengukur berdasarkan skala, dan dibandingkan antara kelinci kontrol negatif (K-), kelinci kontrol positif (K+), kelompok kelinci P1 terapi ekstrak kecambah kacang hijau dosis 0,92 g /kg BB dan kelompok kelinci P2 terapi ekstrak kecambah kacang hijau dosis 1,84 g /kg BB. Setelah dilakukan penghitungan didokumentasikan dan dilakukan analisis data.

4.3.9 Analisa Data

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah berat uterus dan ketebalan endometrium uterus. Berat uterus diukur dengan timbangan analitik dan analisa hasil berupa kuantitatif. Ketebalan endometrium uterus diamati secara kuantitatif dengan aplikasi OlyVIA, data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan Microsoft Excel dan SPSS 16.0 untuk Windows dengan analisis ragam *one way ANOVA*.

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Pemberian Fitoestrogen Kecambah Kacang Hijau Terhadap Berat Uterus Kelinci

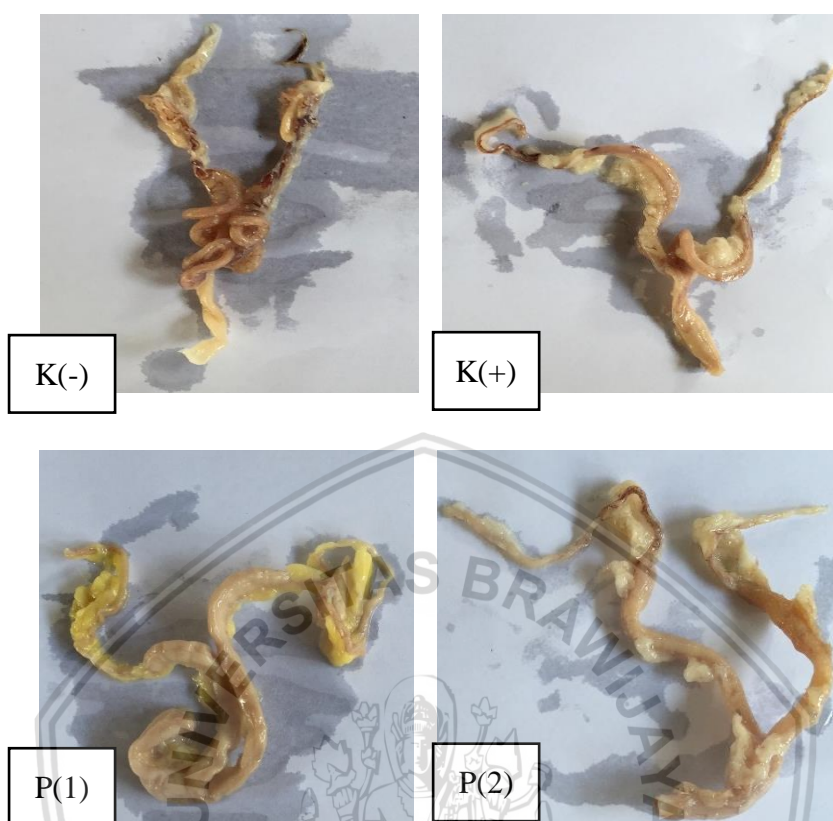
Hasil pengukuran berat uterus kelinci yang ditimbang dengan timbangan analitik sebelum dilakukan perlakuan dan setelah diberikan ekstrak kecambah kacang hijau sebagai fitoestrogen terlihat pada (Tabel 5.1).

Tabel 5.1 Berat Uterus Kelinci

Data Sampel	Rataan Berat	Berat Uterus	
	Uterus (g) +SD	Kenaikan(%)	Penurunan(%)
K(-) tanpa perlakuan	4,76±0,37 ^a	0	0
K(+) induksi progesterone	8,15±0,25 ^b	71,22	-
P(1) induksi progesterone & fitoestrogen 0,92 g/kg	10,05±0,61 ^c	111,13	-
BB			
P(2) induksi progesterone & fitoestrogen 1,84 g/kg	11,45±0,46 ^d	140,54	-
BB			

Data pada (Tabel 5.1) didapatkan hasil berat uterus yang ditimbang dengan timbangan analitik setelah hewan coba dilakukan laparotmi. Pada kelinci control negative sebagai control normal yaitu dengan berat 4,76 gram. Kelinci pada control positive yang diberikan perlakuan dengan induksi hormone progesterone dengan kadar 4,6mg/ 2kg bb menunjukkan berat uterus yang meningkat dengan berat 8,15 gram. Kelinci perlakuan 1 dengan perlakuan induksi hormone progesterone dosis 4,6mg/ 2 kg bb serta di induksi dengan fitoestrogen dari ekstrak kecambah kacang hijau dosis 0,92 g/kg BB menunjukkan berat uterus 10,05 gram. Kelinci perlakuan 2 dengan induksi hormone progesterone dosis 4,6mg/ 2kg bb dan induksi fitoestrogen dari ekstrak kecambah dengan dosis 1,84 g/kg BB menunjukkan berat uterus 11,45 gram.

Peningkatan berat uterus pada kelompok perlakuan P(2) dengan pemberian hormone progesterone dan senyawa fitoestrogen ekstrak kacang hijau dengan dosis 1,84 g/kg BB mengalami perbedaan berat uterus dibandingkan dengan kelompok negative yaitu kelompok control normal. Dosis fitoestrogen yang lebih tinggi (pada penelitian ini 1,84 g/kg BB) sehingga menghambat proliferasi endometrium. sebagai akibat pemberian senyawa fitoestrogen pada ekstrak kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) akan menyebabkan bertambahnya sel-sel penyusun jaringan tersebut dan faktor sifat kerapatan jaringan akan meningkatkan massa uterus (Cano,2000).



Gambar 5.1 Gambar makroskopis uterus kelinci,

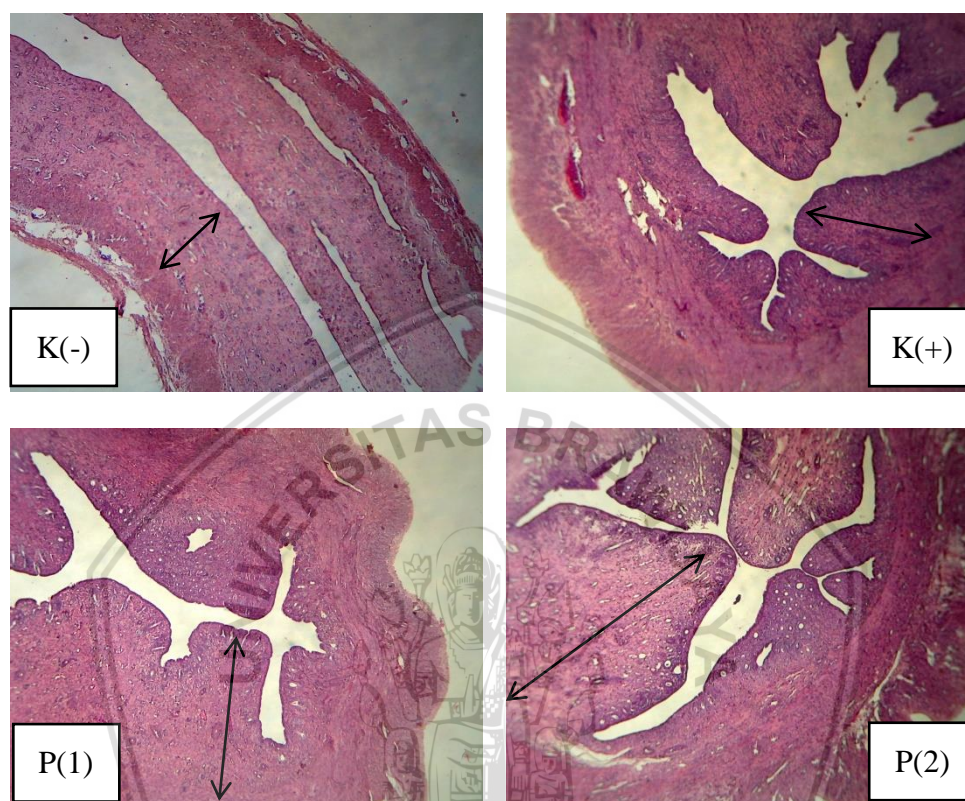
Keterangan : K(-) kontrol negatif tanpa diberi perlakuan ; K(+) control positif dengan perlakuan induksi hormone progesterone ; P(1) perlakuan 1 dengan pemberian induksi hormone progesterone dan ekstrak kecambah dengan dosis 0,92 g/kg BB ; dan P(2) perlakuan 2 dengan pemberian induksi hormone progesterone dan ekstrak kecambah dosis 1,84 g/kg BB.

5.2 Pengaruh Pemberian Fitoestrogen Kecambah Kacang Hijau Terhadap

Ketebalan Endometrium Uterus Kelinci

Gambaran histopatologi ketebalan endometrium dilakukan pewarnaan dengan pewarna HE (*Hematoxilin Eosin*) yang kemudian diamati dengan mikroskop *Olympus BX51* perbesaran 40x. Pengukuran ketebalan dilakukan pada aplikasi OlyVIA. Penentuan tebal uterus

dilakukan pada pengukuran pada tengah endometrium yang telah di rata – rata setiap sayatan.



Gambar 5.2 Hasil pengukuran ketebalan endometrium kelinci secara mikroskopis

Keterangan : K(-) kontrol negatif tanpa diberi perlakuan ; K(+) control positif dengan perlakuan induksi hormone progesterone ; P(1) perlakuan 1 dengan pemberian induksi hormone progesterone dan ekstrak kecambah dengan dosis 0,92 g/kg BB ; dan P(2) perlakuan 2 dengan pemberian induksi hormone progesterone dan ekstrak kecambah dosis 1,84 g/kg BB.

Hasil uji Anova *one way* pada data ketebalan endometrium diperoleh ada ketebalan yang bermakna rata-rata ketebalan endometrium keempat kelompok sampel pengamatan, hal ini ditunjukkan dengan nilai p-value <0,05 pada (**Tabel 5.2**).

Tabel 5.2 Hasil pengukuran ketebalan endometrium terhadap kelompok perlakuan

Kelompok perlakuan	Rata-rata ketebalan Endometrium (mm)	Ketebalan Endometrium	
		Kenaikan(%)	Penurunan(%)
K(-) tanpa perlakuan	0.46±0.076 ^a	0	0
K(+) induksi progesterone	0.64±0.093 ^b	38,5	-
P(1) induksi progesterone & fitoestrogen 0,92 g/kg BB	0.96±0.115 ^c	107,79	-
P(2) induksi progesterone & fitoestrogen 1,84 g/kg BB	1.28±0.054 ^d	177,05	-
Keterangan : Notasi berbeda menunjukkan adanya perbedaan antar perlakuan P< (0,05)			

Pada kelompok perlakuan kontrol negatif K(-) menunjukkan rata-rata ketebalan endometrium sebesar 0.46±0.076^a mm. Kelompok perlakuan kontrol positif K(+) menunjukkan rata-rata ketebalan endometrium sebesar 0.64±0.093^b mm yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan kelompok negative yang ditunjukkan dengan notasi yang berbeda. Ketebalan endometrium tersebut mengalami peningkatan sebesar 38,5% dibandingkan dengan kontrol negatif K(-).

Kelompok perlakuan kontrol terapi ekstrak kecambah dosis 0,92 g/kg BB (P1) menunjukkan rata-rata ketebalan endometrium sebesar 0.96±0.115^c mm yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan kelompok negative yang

ditunjukkan dengan dengan notasi yang berbeda. Ketebalan endometrium tersebut mengalami peningkatan sebesar 107,79% dibandingkan dengan kontrol negatif K(-). Kelompok perlakuan kontrol terapi ekstrak kecambah dosis 1,84 g/kg BB (P2) menunjukkan rata-rata ketebalan endometrium sebesar $1,28 \pm 0.054^d$ mm yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan kelompok negatif yang ditunjukkan dengan dengan notasi yang berbeda. Ketebalan endometrium tersebut mengalami peningkatan sebesar 177,05% dibandingkan dengan kontrol negatif K(-).

Data pengukuran ketebalan endometrium uterus kelompok kontrol negative (k-) pada Tabel 5.2 dijadikan sebagai ketebalan endometrium pada kondisi normal kelinci sebagai hewan coba dan dilihat bahwa terdapat perbedaan yang nyata kelompok kontrol positif (k+) dilihat dari adanya notasi yang berbeda. Hal ini, menunjukkan bahwa dengan pemberian fitoestrogen dari ekstrak kecambah kacang hijau mampu meningkatkan ketebalan endometrium uterus.

Menurut Pawitan (2002), yang menyatakan bahwa fitoestrogen bekerja sebagai antiestrogen pada jaringan reproduksi (ovarium, endometrium dan kelenjar mammae), sedangkan aktivitas estrogeniknya nyata pada tulang. Pada fitoestrogen ditemukan reseptor molekul yang disebut RE β , untuk membedakan dengan RE α . Kedua bentuk RE ini mengikat estrogen dengan aktifitas sama. Dalam jaringan tulang dijumpai lebih banyak RE β dibandingkan dengan RE α . Menurut Mohamud (2013), menyatakan bahwa fitoestrogen seperti halnya estrogen memiliki aktivitas uterotropik yang menyebabkan peningkatan massa uterus. Fitoestrogen ini bekerja dengan cara yang sama seperti estradiol, yaitu

dengan berikatan pada reseptor estrogen (ER) dan kompleks reseptor ligand untuk menuginduksi ekspresi dari gen yang responsif terhadap estrogen sehingga terjadi peningkatan massa uterus. Keadaan ini dapat diperbaiki dengan pemberian senyawa fitoestrogen.

Menurut Puspitadewi (2007) bahwa berat uterus sangat dipengaruhi oleh tebal endometrium uterus dan sekret yang dihasilkan oleh kelenjar uterus. Tebal endometrium uterus merupakan faktor utama yang mempengaruhi berat uterus karena endometrium uterus merupakan lapisan yang paling responsif terhadap perubahan hormon reproduksi, terutama hormon estrogen. Penyusun lapisan endometrium uterus adalah selapis epitel kolumnar dan lamina propia yang terdiri dari jaringan ikat dan kelenjar. Kelenjar uterus di dalam endometrium merupakan kelenjar tubular sederhana yang mengalami perubahan sepanjang siklus estrus. Aksi senyawa isoflavon kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) yang bersifat sebagai fitoestrogen sepanjang fase folikular menyebabkan proliferasi lapisan endometrium, termasuk kelenjar endometrial. Hal inilah yang menyebabkan dinding uterus semakin tebal sehingga bobotnya pun bertambah (Sitasiwi, 2008). Selain itu, struktur penyusun jaringan ikat adalah sel-sel yang rapat dan rongga antar sel yang diisi oleh serat-serat pengikat sehingga membentuk jaringan yang padat dan rapat (Halim, 2003). Proses proliferasi pada endometrium yang disebabkan oleh senyawa fitoestrogen akan menyebabkan pertambahan berat uterus, maka korelasi antara keduanya akan berkorelasi signifikan dan positif artinya adalah, semakin tebal endometrium maka semakin menambah berat uterus.

BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) mempengaruhi berat uterus dan tebal endometrium pada kelinci *New zealand white* (*Oryctolagus cuniculus*)
2. Dosis efektif pemberian ekstrak kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) dalam peningkatan berat uterus dan tebal dinding endometrium kelinci *New zealand white* (*Oryctolagus cuniculus*) pasca induksi hormon progesterone adalah dosis 1,84 g/ kg BB.

6.2 Saran

Untuk dilakukan penelitian lebih lanjut dengan dosis yang sama untuk mengetahui kadar hormon estrogen dalam serum. Serta untuk dilakukan penelitian dengan dosis yang sama untuk dengan parameter pengamatan gambaran histologi lapisan endometrium, miometrium dan perimetrium uterus kelinci.

DAFTAR PUSTAKA

- Andersen, C.R. 2006. *Mung Bean-Phaseolus radiatus L.* University of Arkansas, Arkansas, United States of America.
- Andrianto, T.T. dan N., Indarto. 2004. *Budidaya dan Analisis Tani Kedelai Kacang Hijau, Kacang Panjang.* Absolut. Yogyakarta. Hal : 93.
- Anggara, R. 2009. Pengaruh Ekstrak Kangkung Darat (*Ipomea reptans poir*) terhadap Efek Sedasi pada Mencit Balb/c. *Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Imiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.* Semarang.
- Anwar F, Sulaeman A, Kustiyah L. 1999. Penuntun Praktikum Pengolahan Pangan Nabati dan Hewani. Bogor : Gizi Masyarakat dan Sumberdaya Keluarga, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Cano, A. dan Hermenegildo, C. 2000. *The Endometrial Effects of SERMs.* Human Reproduction Update *E x m a M u ' t a t a l H i k m a h* , 2 0 1 4 | 8 Jurusan Biologi Fakultas SAINTEK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang 2000, Vol. 6 No. 3 pp. 244-254.
- Cooke, S.Paul, Buchanan, L.David,Lubahn,B.Dennis, Cunha,and R.Gerald.1998. Mechanism of Estrogen action: Lesson from Estrogen Receptor- α Knockout Mouse. *Biology of Reproduction* 59.470-475.
- Glover A. and S.J Assinder. 2006. Acute exposure of adult male rats to dietary phytoestrogen reduces fecundity and alters epididymal steroid hormone receptor expression. *Jour. Endoc.* 189: 565-573.
- Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger, dan Huber JC. 2002. Production and Actions of Estrogens. *Engl J Med.* 346 (5): 340–352.
- Guyton, A.C. 2004. *Textbook of Medical Physiology.* W.B. Saunders Company. Philadelphia. 57-58.
- Heffner, Linda J. 2005. *At a Glance Sistem Reproduksi Edisi Kedua.* Erlangga Medical Series.
- Hernawati, 2009. *Perbaikan Kinerja Reproduksi Akibat Pemberian Isoflavon dari Tanaman Kedelai.* Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA Universitas Pendidikan Indonesia Bandung.
- Herman S. 2001. *Hypocholesterolemic and Atherosclerosis Effect of Legumes Versus Animal Protein : Review of Animal and Human Studies.* Jakarta : Center for Research and Development of Nutrition and Food, NIHRD.

- Hustamin, R. 2006. *Panduan Memelihara Kelinci Hias*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Ismudiono, 2000. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Edisi II. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Junqueira LC, J Carneiro . 2006. *Basic Histology: Text and Atlas*. Ed.11. Poule; McGraw-Hill Medical. 3
- Kim, S.H dan Park, M.J. 2012. Effects of Phytoestrogen on Sexual Development. *Korean J. Pediatr.* **55** (8):265-271.
- Kusriningrum. 2008. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Madhumati, B. G., M. V. Venkatarangan, S. Gophumadhavan, M. Rofiq, and S. K. Mitra. 2006. Induction and Evaluation of Atherosclerosis in New Zealand White Rabbit. *Indian Journal of Experimental Biology* Vol 44; 203-08.
- Maulana, A., 2010, *Pengaruh Ekstak Tauge (Phaseolus radiatus) Terhadap Kerusakan Sel Ginjal Mencit (Mus musculus) Yang Diinduksi Parasetamol*. Skripsi. Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret Surakarta
- Nurjanah. 2012. Aktivitas Antioksidan Dan Komponen Bioaktif Semanggi Air (*Marsilea Crenata*). *Jurnal Inovasi dan Kewirausahaan*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Narulita, E.Prihatin, J Dan R.S. Dewi. 2016. *Pemanfaatan Hasil Induksi Hormon Estrogen terhadap Kadar Estradiol dan Histologi Uterus Mencit (Mus musculus)* Sebagai Buku Suplemen Sistem Reproduksi di SMA. *Jurnal Bioedukatika* 4(2):1-7
- Poedjiaji, A. 2009. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI-Press. 417.
- Purwono Dan R.Hartono. 2005. Seri Agribisnis : *Kacang Hijau*. Penerbit Penebar Swadaya; Jakarta.
- Puspitadewi, Sinthia dan Sunarno. 2007. Potensi Agensia Anti Fertilitas Biji Tanaman Jarak (*Jatropha curcas*) dalam Mempengaruhi Profil Uterus Mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster. *Jurnal Sains & Matematika (JSM)* Volume 15, Nomor 2, April 2007, Hal. 55 – 60.
- Rahardja, Kirana dan Tan Hoan Tjay. 2007. *Obat – obat Penting, khasiat, penggunaan dan efek – efek sampingnya*. Edisi keenam. Gramedia. Jakarta. 700.

- R.P.A. Barros, U.F. Machado, M. Warner, J.-A. Gustafsson, Muscle GLUT4 regulation by estrogen receptors ERbeta and ER, *Proc. Natl.Acad. Sci USA*. (2006) 1605–1608, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0510391103>.
- Rukmana. 2011. *Sukses Beternak Kelinci*. Penebar Angkasa, Bandung.
- Sarwono, B. 2003. *Kiat Mengatasi Permasalahan Praktis Kelinci Potong dan Hias*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Sarwono, B. 2007. *Kelinci Potong dan Kelinci Hias*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Sitasiwi, Agung Janika. 2008. *Hubungan Kadar Hormon Estradiol 17-β dan Tebal Endometrium Uterus Mencit (Mus musculus L.) selama Satu Siklus Estrus*. Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan Jurusan Biologi FMIPA UNDIP.
- Scanlon Valerie C, Sanders Tina. 2007. *Buku Ajar Anatomi Dan Fisiologi (Essentials of Anatomy and Physiology)* ; Edisi III, cetakan pertama. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 301 – 306.
- Smith, J. B., S. Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: UI Press.
- Setchell K.D. 1998. *Phytoestrogens the Biochemistry, Physiology, and Implications for Human Health of Soy Isoflavones*. *Am. J. Clin. Nutr.* **68**(6 Suppl):1333S-1346S.
- Suhardjo. 2000. *Prinsip-prinsip Ilmu Gizi*. Bogor: IPB-press. 73-74.
- Sutedjo, M. M. 2002. *Pupuk dan Cara Pemupukan*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Wang, C. & Kurzer, M. S. 2003. Phytoestrogen Concentration Determines Effects on DNA Synthesis in Human Breast Cancer Cells. *Nutrition and Cancer* 28 (3): 236-247.
- Winarsi H.2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta : Kanisius,pp: 82 -87 , 105-9, pp:873-4
- Wisnu, T. J. 2009. The Ovariectomized rat As An Animal Model For Postmenopausal Myometrium Cancer. *Journal of Cells and Materials* S1: 69-74.
- Van Abel, M., J.G.J. Heonderop, O.Dardenne, R.St Arnaud, C.H.Van Os, H.J.P.T.M. Van Leeuwen, and R.J.M.Bindels.2002. 1,25-Dihydroxyvitamin D3-independent Stimulatory Effect Of Estrogen On The Expression OF ECAC1 In The Kidney.*J. Am.Nephrol.* 13:2102-2109.

Xu,H.,J.K.Uno, M. Inouye, L.Xu, J.B. Dress, J.F. Collin, and F.K. Ghishan. 2003.
*Regulation of intestinal NaPi-IIb cotransporter gene expression by
estrogen .J.Am. Physiol. Gastrointest.*285: 1317-1324

